

学校编码：10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号：20620091151258

UDC\_\_\_\_\_

廈門大學

碩 士 学 位 论 文

细胞浓度控制元件的合成生物学研究

Synthetic Biology on Intelligent Control of Cell Density in  
Bacteria

胡译丹

指 导 教 师：方柏山教授

专 业 名 称：化 学 工 程

论文提交日期：2012 年 5 月

论文答辩时间：2012 年 6 月

学位授予日期：2012 年 6 月

答辩委员会主席：\_\_\_\_\_

评 阅 人：\_\_\_\_\_

2012 年 6 月

厦门大学博硕士论文摘要库

**Dissertation Presented to the Academic Degree Committee of Xiamen University**

**Synthetic Biology on Intelligent Control of  
Cell Density in Bacteria**

**In Candidacy for the Master's Degree of Engineering  
in Biochemical Engineering**

**Master's Degree Candidate: Yidan Hu**

**Supervised by *Prof.* Fang**

**Xiamen University**

**June 2012**

厦门大学博士论文摘要库

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博士论文摘要库

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月    日

厦门大学博士论文摘要库



## 目 录

摘 要 .....	1
第一章 绪 论 .....	3
1.1 合成生物学 .....	3
1.2 群体感应系统 .....	5
1.2.1 调节蛋白 LuxR .....	7
1.2.2 自诱导物合成酶 luxI .....	7
1.2.3 启动子 <i>luxpR</i> .....	7
1.3 构建人工群体感应系统 .....	8
1.3.1 群体感应机制用于细胞浓度控制的研究 .....	8
1.3.2 改变群体感应浓度阈值的研究 .....	9
1.4 生物砖 .....	10
1.4.1 生物砖元件定义 .....	10
1.4.2 生物砖元件的高效组装技术 .....	12
1.4.3 标准化生物砖质粒骨架的组装技术 .....	13
1.4.4 生物砖元件的转录效率 .....	13
1.4.5 生物砖性能的检测表征 .....	14
1.4.6 报告基因 .....	15
1.5 定点突变 .....	16
1.5.1 定点突变的方法 .....	16
1.5.2 定点突变的应用 .....	17
1.6 本课题由来及研究意义 .....	17
第二章 细胞浓度控制元件的性能表征 .....	19
2.1 引言 .....	19
2.2 材料与方法 .....	20
2.2.1 菌株与质粒 .....	20
2.2.2 主要试剂 .....	20
2.2.3 主要实验仪器 .....	21

2.2.4 培养基.....	22
2.2.5 常用溶液.....	22
2.2.6 活菌数的测定.....	22
<b>2.3 实验结果 .....</b>	<b>23</b>
2.3.1 含 RBS <sub>0.07</sub> 群体感应通路工程菌活菌曲线的测定.....	23
2.3.2 含不同效率 RBS 群体感应通路工程菌稳定期浓度的测定 .....	25
2.3.3 群体感应通路的数学模型.....	27
<b>2.4 小结与讨论 .....</b>	<b>31</b>
<b>第三章 定点突变技术改造启动子 <i>luxpR</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 引言 .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2 材料与方法 .....</b>	<b>33</b>
3.2.1 菌种与质粒.....	33
3.2.2 工具酶、Marker 及试剂盒.....	34
3.2.3 主要试剂.....	34
3.2.4 主要实验仪器.....	34
3.2.5 培养基.....	34
3.2.6 常用溶液.....	34
3.2.7 突变模板 pSB1A2-IR-EGFP 的构建方法 .....	35
3.2.8 启动子 <i>LuxpR</i> 的定点突变方法 .....	38
3.2.9 荧光的测定.....	41
3.2.10 突变菌株稳定期活菌数的测定.....	41
<b>3.3 实验结果 .....</b>	<b>42</b>
3.3.1 突变模板 pSB1A2-IR-EGFP 的构建.....	42
3.3.2 启动子 <i>luxpR</i> 的定点突变 .....	43
3.3.3 启动子效率的测定.....	45
3.3.4 细菌程序性死亡群体感应通路中 <i>luxpR</i> 的改造 .....	47
<b>3.4 小结与讨论 .....</b>	<b>49</b>
<b>第四章 细胞浓度控制元件性能表征新方法的初步探索 .....</b>	<b>50</b>
<b>4.1 引言 .....</b>	<b>50</b>

4.2 材料与方法 .....	51
4.2.1 菌株与质粒.....	51
4.2.2 工具酶、Marker 及试剂盒.....	51
4.2.3 主要试剂.....	51
4.2.4 主要实验仪器.....	51
4.2.5 生物砖 pSB1AK3- <i>PlacO-1-RBS1.0-EGFP-TT</i> 和 pSB1AK3- <i>iccdB-EGFP</i> 的构建方法 .....	51
4.2.5 荧光强度的测定.....	51
4.3 实验结果 .....	52
4.3.1 生物砖 pSB1AK3- <i>RBS1.0-EGFP-TT</i> 的构建 .....	52
4.3.2 生物砖 pSB1AK3- <i>iccdB-EGFP</i> 的构建 .....	53
4.3.3 生物砖元件性能考察.....	54
4.4 小结与讨论 .....	55
第五章 总 结 .....	56
第六章 展 望 .....	57
参考文献.....	58
致 谢.....	65
附 录.....	67
硕士期间发表论文及获奖情况.....	73

厦门大学博士论文摘要库

# CONTENTS

<b>Abstract</b>	1
<b>Chapter 1 Introduction</b>	3
<b>1.1 Synthetic biology</b>	3
<b>1.2 Quorum-sensing system</b>	5
1.2.1 LuxR transcriptional activator	7
1.2.2 LuxI signal synthase	7
1.2.3 Promoter <i>luxpR</i>	7
<b>1.3 Artificially quorum-sensing circuit</b>	8
1.3.1 Quorum-sensing mechanism used in programmed population control	8
1.3.2 Artificial change of quorum-sensing threshold	9
<b>1.4 Biobrick</b>	10
1.4.1 Definition of biobrick	10
1.4.2 Powerful assembly of biobrick	12
1.4.3 Standard assembly of biobrick backbone	13
1.4.4 Efficiency definition of biobrick parts(promoter and RBS)	13
1.4.5 Performance detection of biological system	14
1.4.6 Reporter gene	15
<b>1.5 site-directed mutation</b>	16
1.5.1 Method of sit-directed mutation	16
1.5.2 Application of sit-directed mutation	17
<b>1.6 Contents and purpose of the thesis</b>	17
<b>Chapter 2 Performance detection of iccdB device</b>	19
<b>2.1 Introduction</b>	19
<b>2.2 Materials and methods</b>	20
2.2.1 Strains and plasmids	20
2.2.2 Experimental reagents	20
2.2.3 Experimental instruments	21

2.2.4 Preparation of media .....	22
2.2.5 Preparation of solutions .....	22
2.2.6 Measurement of CFU .....	22
<b>2.3 Results .....</b>	<b>23</b>
2.3.1 Growth kinetics of <i>E. coli</i> with $RBS_{0.07}$ bacteria population control device .....	23
2.3.2 Cell density of <i>E. coli</i> with different <i>RBS</i> bacteria population control device on steady state .....	25
2.3.3 Mathematical model of bacteria population control device .....	27
<b>2.4 Conclusion and discussion .....</b>	<b>31</b>
<b>Chapter 3 Site-directed mutation of promoter <i>luxpR</i> .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Introduction .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2 Materials and methods .....</b>	<b>33</b>
3.2.1 Strains and plasmids .....	33
3.2.2 Enzymes, marker and kits .....	34
3.2.3 Experimental reagents .....	34
3.2.4 Experimental instruments .....	34
3.2.5 Preparation of media .....	34
3.2.6 Preparation of solutions .....	34
3.2.7 Construction method of pSB1A2- <i>IR-EGFP</i> .....	35
3.2.8 Site-directed mutation method of promoter <i>luxpR</i> .....	38
3.2.9 Measurement of fluorescence .....	41
3.2.10 Measurement of CFU .....	41
<b>3.3 Results .....</b>	<b>42</b>
3.3.1 Construction of pSB1A2- <i>IR-EGFP</i> .....	42
3.3.2 Site-directed mutation of promoter <i>luxpR</i> .....	43
3.3.3 Measurement of <i>luxpR</i> efficiency .....	45
3.3.4 Site-directed mutation of promoter <i>luxpR</i> on bacteria population control device .....	47

<b>3.4 Conclusion and discussion</b> .....	49
<b>Chapter 4 New method of performance detection of iccdB device</b> .....	50
<b>4.1 Introduction</b> .....	50
<b>4.2 Materials and methods</b> .....	51
4.2.1 Strains and plasmids .....	51
4.2.2 Enzymes, marker and kits .....	51
4.2.3 Experimental reagents.....	51
4.2.4 Experimental instruments .....	51
4.2.5 Construction method of biobrick pSB1AK3- $P_{lacO-1}$ -RBS <sub>1.0</sub> -EGFP-TT and pSB1AK3-iccdB- EGFP .....	51
4.2.5 Measurement of fluorescence .....	51
<b>4.3 Results</b> .....	52
4.3.1 Construction of pSB1AK3- $P_{lacO-1}$ -RBS <sub>1.0</sub> -EGFP-TT.....	52
4.3.2 Construction of pSB1AK3-iccdB-EGFP .....	53
4.3.3 Performance detection of device.....	54
<b>4.4 Conclusion and discussion</b> .....	55
<b>Chapter 5 Conclusions</b> .....	56
<b>Chapter 6 Prospects</b> .....	57
<b>References</b> .....	58
<b>Acknowledgements</b> .....	65
<b>Appendix</b> .....	67
<b>List of Publication and Awards</b> .....	73

厦门大学博硕士论文摘要库



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库